DIE LOKALISATION DES VITAMIN C IM DENTIN UND IN DER PULPA DES MENSCHLICHEN ZAHNES

vorgelegt von

OLGA MONIKA HARNDT

aus

ROSTOCK

ERLANGEN 1964

1963 W 107

DIE LOKALISATION DES VITAMIN C IM DENTIN UND IN DER PULPA DES MENSCHLICHEN ZAHNES

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
OLGA MONIKA HARNDT
aus
ROSTOCK

ERLANGEN 1964

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkranke
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. Dr. med. dent. Gerhard Steinhardt

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Professor Dr. med. Gerhard Theissing
Referent: Privat-Dozent Dr. med. Dr. med. dent. Oskar Bock
Korreferent: Professor Dr. med. Dr. med. dent. Gerhard Steinhardt
Tag der mündlichen Prüfung: 9. 3. 1964

Druck: Karl Müller, Erlangen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Literatur zum Thema	5
II. Problemstellung	6
III. Material und Methode	7
1. Material	7
2. Gerät zum Schneiden	8
3. Literatur zum Mikrotom	9
4. Nachweismethode des Vitamin C im Gewebe	10
5. Literatur zum Ascorbinsäure-Nachweis	11
IV. Befunde	13
1. Gruppe I	13
2. Gruppe II	16
3. Gruppe III	17
4. Gruppe IV	20
5. Gruppe V	20
6. Gruppe VI	21
7. Gruppe VII	21
8. Gruppe VIII	21
V. Ergebnisse	24
VI. Deutung der Befunde	25
VII. Zusammenfassung	27
VIII. Anhang	28
1. Literaturnachweis	28
2. Danksagungen	31
3. Lebenslauf	32

I. Literatur zum Thema

Während sich zahlreiche Arbeiten mit den Störungen befassen, die das Fehlen der Ascorbinsäure bei der Entwicklung der Zahnhartsubstanzen hervorruft *(Bloch 7, Branchini 10, Brinch 13, Höjer* und *Westin 40, Schneider 59, Sortino 63, Westin 76* u. v. a. m.), und meist klinisch die Rolle des Vitamin C bei der Genese der Zahnbetterkrankungen untersucht wird *(Baumann 5, Berthensen 6, Breuer* und *Kaldarer 11, Breuer* und *Hynek 12, Brinch 14, Burrell 16, Eickermann 24, Fitzsimmonds 27, Frank 28, Hecht 37, Hof 41, Liotta 50, Marx 51, Noak 52, Popowa 56, Thomas 67* und *Westin 76)*, berichten über das spezielle Thema, ihrer Lokalisation im Zahnmark und Dentin, bisher nur wenige Autoren.

Die erste Arbeit von *Demole, Cahen* und *Pfaltz (22)* beschränkt sich auf die Untersuchung von Meerschweinchenpulpen. Die Autoren versuchten die Lokalisation des Vitamins C während der Bildung von Schmelz und Dentin festzustellen.

Zur Darstellung wurde von ihnen die von *Giroud* und *Leblond (30, 31, 32)* angegebene Silberniederschlagsfärbung verwandt. Das technische Vorgehen bei der Herstellung der Präparate bestand in der Isolierung von Zahnkeimen, der Färbung im Stück mit nachfolgendem Einbetten in Paraffin und anschließendem Schneiden.

Sie fanden bei der Zahnentwicklung zwei Zonen starker Ascorbinsäurereaktion an der inneren und äußeren Schicht der „noch nicht hart verkalkten jungen Zahnsubstanz". Sie sahen also in der Zone der Schmelz- und in der Gegend der Dentinmineralisation Silberniederschläge. Eine dritte Linie beschrieben sie innerhalb der Ameloblastenreihe. In den Odontoblasten sahen sie offenbar keine Ascorbinsäureaktion. Sie verzichteten auf die Untersuchung bereits länger in Funktion stehender Zähne.

Otto Walkhoff (75) stellt in seiner Monographie „die Vitamine in ihrer Bedeutung für die Entwicklung, Struktur und Widerstandsfähigkeit der Zähne gegen Erkrankungen" ausführlich die Versuche seines Bruders *Ernst Walkhoff (74)* an skorbutischen und normalen Meerschweinchen dar. Er untersucht seine Tiere mit konventionellen histologischen Methoden und bestätigt die Befunde von *Höjer* und *Westin (40)*, die als erste experimentiell erzeugten Skorbut an Meerschweinchenzähnen histologisch untersuchten.

Eine weitere Arbeit zu dem Thema stammt von *Naujoks (53)*. Dieser Autor bevorzugt die von *Tonutti* und *Plate (72)* angegebene Darstellung der Ascorbinsäure durch die Goldchloridmethode. Auch er färbt die Präparate im Stück, entkalkt, bettet in Paraffin ein und schneidet sie nach Durchführung der Reaktion. In seiner sehr umfangreichen Arbeit über „Histotopochemische Untersuchungen am Zahnorgan" beschränkt er sich bei der Betrachtung der Vitaminlokalisation gesunder Zähne vorwiegend auf die Zahnentwicklung (Abb. des Zahnes einer 10 Tage alten Ratte und —5 eines 12jährigen Kindes, eine genaue, eingehende Beschreibung der

Befunde dieser Zähne gibt der Autor nicht), und umgeht die Untersuchung der Zähne Erwachsener. Er kommt zu den gleichen Resultaten wie die erstgenannten Autoren. In beiden Arbeiten wird auf eine Deutung der Befunde verzichtet mit der Begründung, es sei zu wenig über die Aufgaben der Ascorbinsäure bekannt.

Aoki (1) weist mit der Dichlorphenolindophenolmethodik titrimetrisch den Gehalt der Pulpa von Meerschweinchen- und Kaninchenzähnen an Vitamin C nach. Er stellt fest, daß das Zahnmark jugendlicher Zähne höhere Werte aufweist, als das älterer Tiere. Eine Lokalisation des Vitamin C im Gewebe führt er nicht durch.

Yale und Mitarbeiter *(77)* verfolgten das Vitamin C im Periodont und der Pulpa durch radioaktives Markieren mit C_{14} und intraperitonealer Injektion. Im Schmelz und Dentin fanden sie bei dieser Methode der Ascorbinsäuredarstellung keine Radioaktivität. Histochemisch weisen sie Vitamin-C-Aktivität an der „Peripherie der Pulpa" nach. Das Hauptgewicht wird in den zuletzt zitierten Arbeiten auf die Untersuchung des „skorbutischen Meerschweinchens" gelegt, während die Lokalisation des Vitamin C in der gesunden Pulpa nur am Rande der Arbeiten Erwähnung findet.

Auch *Fullmer* und Mitarbeiter *(29)*, die die „Rolle der Ascorbinsäure bei der Bildung und Erhaltung der Zahnstrukturen" untersuchen, bedienen sich ausschließlich des Meerschweinchens als Versuchsobjekt. Sie messen der Beurteilung des skorbutischen Tieres die größere Bedeutung bei. In der Zusammenfassung ihrer Arbeit stellen sie fest: „diese Beobachtungen legen den Gedanken nahe, daß das Vitamin C zahlreiche Wirkungen hat." Ihre Arbeit ist mit sehr eindrucksvollen histologischen Bildern von Meerschweinchenzähnen ausgestattet.

II. Problemstellung

Die geringe Zahl an Veröffentlichungen über die Lokalisation und das *völlige Fehlen* eingehender histochemischer Darstellungen des Vitamins C im *menschlichen* Zahnmark berechtigt zu einer Überprüfung der bisher noch sehr lückenhaften Ergebnisse und zu dem Versuch, histochemisch die Lokalisation der Ascorbinsäure im menschlichen Zahn zu untersuchen; um so mehr, als darauf verwiesen werden kann, daß in den letzten Jahren in der histochemischen Methodik Fortschritte erzielt wurden, die mit verbesserter Technik der Aufbereitung der Präparate weitgehend neue Erkenntnisse erwarten lassen. So sollen die vorliegenden Untersuchungen

1. Die Verteilung der Ascorbinsäure im Zahnmark und im Dentin pulpagesunder Zähne klären, wobei

2. Das verarbeitete Material sich aus Zähnen von Patienten verschiedener Altersklassen zusammensetzt, um auch einen Einblick in die Verteilung des Vitamin C in den einzelnen Lebensperioden zu gewinnen, und

3. Zu klären, ob es während verschiedener Lebenszeiten Verschiebungen in der Lokalisation des Vitamin C in Pulpa und Dentin gibt.

III. Material und Methode

1. Material

Die in dieser Arbeit angegebene Methodik unterscheidet sich in mehreren wesentlichen Punkten von den bisher üblichen Untersuchungsverfahren.

Es wurden sowohl lebensfrische Zähne von Patienten, als auch Zahn-Kiefer-Stücke von Leichen*) (12 Stunden post mortem) verschiedener Altersstufen entnommen, mit Kohlensäureschnee (ca. −45° C) eingefroren und bis zur Verarbeitung bei ca. −40° C im Kohlensäureschnee bis längstens 6 Stunden nach der Entnahme aufbewahrt. Durch die plötzliche Unterkühlung wird die Bildung von Eiskristallen im Gewebe vermieden, Gewebszerreißungen konnten daher nicht beobachtet werden *(Graumann* und *Neumann 35, Pearse 55)*. Das Material wurde nach dem Lebensalter der Patienten in 8 Gruppen unterteilt.

I.	Gruppe	0 – 15 Jahre	6 untersuchte Zähne
II.	Gruppe	16 – 25 Jahre	keine Zähne untersucht
III.	Gruppe	26 – 35 Jahre	7 untersuchte Zähne
IV.	Gruppe	36 – 45 Jahre	7 untersuchte Zähne
V.	Gruppe	46 – 55 Jahre	5 untersuchte Zähne
VI.	Gruppe	56 – 65 Jahre	3 untersuchte Zähne
VII.	Gruppe	66 – 75 Jahre	5 untersuchte Zähne
VIII.	Gruppe	über 75 Jahre	4 untersuchte Zähne

In der Gruppe I wurden keine Zähne von Patienten unter 8 Jahren untersucht. Zähne von Patienten der II. Gruppe fehlen vollständig, da in diesem Lebensalter nur selten Zähne mit gesundem Zahnmark entfernt werden, oder, soweit es sich um Weisheitszähne handelt, ihr entwicklungsgeschichtliches Alter dem bei der Gruppe I entfernten Prämolaren entspricht, d. h. daß mit 17 Jahren die Bifurkation der Weisheitszähne bereits den gleichen Mineralisationsgrad erreicht hat, wie beim 8jährigen die Wurzeln des ersten oberen Prämolaren *(Schour* und *Massler 60)*. Im einzelnen ergibt die tabellarische Zusammenstellung:

*) Herrn Prospektor Dr. C. J. *Lüders*, Chefarzt des Pathologischen Institutes des Städt. Wenckebach-Krankenhauses, Berlin-Tempelhof, sei an dieser Stelle herzlich für die Überlassung der Zahn-Kiefer-Stücke gedankt.

Gruppe	Protokoll-Nummer	Alter	männlich/weiblich	Zahn	Sektions-Nummer
I	33	8	m	+4	
	3	9	m	4+	
	4	12	m	+4	
	17	12	w	—5	
	27	13	w	5+	
	5	15	m	+3	
II	-	-	-	—	
III	35	27	w	5—	
	1	30	m	8+	
	10	32	m	321 —1	622/63
	32	33	w	3—	
IV	15	37	m	87654 +	624/63
	28	39	w	—4	
	29	43	m	+7	
V	26	48	m	7+	
	13	52	m	4321 —	611/63
VI	30	59	w	+3	Präparate ver-
	31	62	m	4—	färbt, nicht
	25	65	w	2—	auszuwerten.
VII	14	71	m	65 +	614/63
	12	74	m	— 234	608/63
VIII	16	78	m	— 3456	626/63

2. Gerät zum Schneiden

Anschließend wurden die Zähne auf dem in Abb. 1 und 2 dargestellten Gerät in minimal 40 µ, maximal 80 µ dicke Scheiben zerlegt. Die Vorrichtung besteht aus einem Mikrotom (Fa. Reichert, Wien) auf dessen Schlitten ein Bohrmaschinenhandstück (Fa. Kaltenbach und Voigt Nr. 277), wie es in der Zahnheilkunde verwendet wird, so angeordnet ist, daß die daran montierte Sägescheibe (63×0,5×16 HSS) über dem Objekttisch läuft. Die Achse ist über eine Montagebrücke auf einem Kugellager laufend gegengelagert. Die Kreissäge mit der starren Antriebswelle ist durch eine Mikrometerschraube (T = 1/100 mm = 10 µ) parallel zur Schnittebene verstellbar. Der Antrieb erfolgt über ein Doriotgestänge (Fa. Kaltenbach und Voigt) von einer beweglich montierten Wandbohrmaschine (Fa. Siemens-Reiniger) mit ca. 5500 U/min. Die Schnittgeschwindigkeit entspricht etwa 1100 m/min (V = $\phi \times \pi 1 \times$ U/min). Diamantscheiben haben sich wegen der mangelnden Möglichkeit zur Berieselung der Schnittfläche und der dadurch bedingten Verschmutzung der Scheibe nicht bewährt.*) Auch

*) Für die Überlassung der Diamantscheibe (70×0,75×16) danken wir der Firma Drendel & Zweiling.

organische Flüssigkeiten, z. B. Alkohol, sind wegen der später durchzuführenden Reaktionen nicht anwendbar, Wasser vereist die Scheibe, wodurch sie in ihrer Schnittleistung nachläßt, und ihr Durchmesser zunimmt. Das Objekt wird auf einem Gefriertisch (Fa. Sartorius, Göttingen) mit Kohlensäureschnee (ca. −45° C) aufgefroren. Während des Schneidens wird sowohl die Säge als auch die Schnittfläche durch eine zusätzlich kohlensäureschneesprühende Düse gekühlt, so daß die Temperatur maximal −10° C entspricht. Durch diese Methode ist es möglich, Hartgewebe und Weichgewebe im Zusammenhang als lebensfrischen Schnitt zu erhalten. Der große Schnittverlust von ca. 550 µ muß in Kauf genommen werden, da dünnere Sägescheiben zu unruhig und ungleichmäßig laufen. Bei der Herstellung der Schnitte und gleichzeitiger Kühlung des Objektes mit Kohlensäureschnee ist für gute Belüftung des Raumes zu sorgen, da die Gefahr der Kohlendioxydansammlung bzw. -vergiftung besteht.

Die relativ geringe Zahl, 37 Zähne von 21 Patienten, erklärt sich aus der Schwierigkeit der Schnittgewinnung. Jeder Zahn läßt sich mit der beschriebenen Apparatur in 5 bis 8 Längsschnitte zerlegen, wobei pro Präparat ein Zeitaufwand von etwa einer Stunde gerechnet werden muß.

3. Literatur zum Mikrotom

Das Herstellen von Schnittserien animalischer Hartgewebe bietet auch heute noch ein schwer zu überwindendes Hindernis. Es sind seit einer Vielzahl von Jahren immer wieder Geräte zur Gewinnung von Zahnschnitten angegeben worden, von denen noch keine voll befriedigen. Es seien von den in der Literatur dargestellten Vorrichtungen zum Schneiden oder Schleifen von Hartgeweben nur diejenigen wiedergegeben, die Anregungen für das in dieser Arbeit verwandte Mikrotom gaben.

Bödecker (9) entwarf eine „Maschine zur Präparation mikroskopischer Schnitte von Zähnen, Fossilien und Mineralien". Er ist der erste, der eine festmontierte, rotierende Scheibe zur Trennung des Materials verwandte. Von ihm wurde für das vorliegende Gerät die rotierende Sägescheibe übernommen. In ähnlicher Anordnung wurde von *Baud* und *Morgenthaler (3)* ein „Mikrotom zur Herstellung von Serienschnitten stark mineralisierter Gewebe" entwickelt. Die Art der Anordnung und die Möglichkeit unter ständiger Berieselung zu schleifen, sind die Vorteile ihrer Maschine. Sie benutzen zur Trennung Karborund- oder Diamantscheiben. Als Antriebswelle wird ein zahnärztliches Handstück benutzt, das in dem zu dieser Arbeit konstruierten Gerät mit einem Gegenlager versehen ebenfalls Verwendung findet. Neue Wege gingen dann *Jansen (46)* und *Dalderup* und *Jansen (21)*. Sie gebrauchten eine innenschneidende Phosphorbronzefolie mit Diamantbelag. Von ihnen wurde der Transport zum Vorschub des Objektes zum Einstellen des Sägeblattes verwandt.

Für die vorliegende Arbeit ergab sich die Notwendigkeit, ein Mikrotom zu entwickeln, das die Möglichkeit bietet, nicht nur die Zahnhartgewebe, sondern auch die Weichgewebe in einem Schnitt lebensfrisch zu erhalten.

Von jedem der angeführten Geräte wurden die erwähnten Konstruktionseinzelheiten entnommen und mit eigenen Weiterentwicklungen*) versehen, für die vorliegende Arbeit verwandt.

4. Nachweismethode des Vitamin C im Gewebe

Anschließend wurden bei dunkelrotem Licht (Lichtquelle: Radium R 304 g 5) die hergestellten Schnitte nach der von *Giroud* und *Leblond (31)* oder der von *Tonutti* und *Plate (72)* beschriebenen Methode ebenfalls bei dunkelrotem Licht gefärbt.

Die Färbung nach *Giroud* und *Leblond* wird folgendermaßen vorgenommen.

1. Überführen der tiefgekühlten Schnitte — ohne auftauen oder spülen — in 10% Silbernitratlösung unter Zusatz von 1% Eisessig für 15 min.
2. 3maliges Spülen in aqu. dest. für jeweils 5 min.
3. 15 min 3% Natriumthiosulfatlsg.
4. 3maliges Spülen in aqu. dest. je 5 min.
5. Alkoholreihe, Karbolxylol, Eindecken in Eukit.

Diese Methode hat sich für die geplanten Untersuchungen aus den von *Tonutti (70)* angeführten Gründen nicht bewährt, „da es (Silbernitratlsg.) zu Schorfbildung beim Knochen und in der Placenta führt". Oft ließ sich außerdem eine nachträgliche Schwärzung der Präparate, trotz ausreichender Fixation, bei Lichteinfall nicht mit Sicherheit vermeiden. Daher wurde im weiteren Verlauf der Arbeit die Goldchloridmethode nach *Tonutti* und *Plate* bevorzugt. Bei dieser Färbung werden die gefrorenen Schnitte bei dunkelrotem Licht:

1. In 1% Goldchloridlsg. unter Zusatz von 2 Tropfen Eisessig pro cm^3 überführt, und verbleiben dort 30 min.
2. 3maliges Spülen in aqu. dest. für je 5 min.
3. Überführen in 3% Natriumthiosulfatlsg. für 15 min.
4. 3maliges Spülen in aqu. dest. für je 5 min.
5. Aufsteigende Alkoholreihe, Karbolxylol, eindecken in Eukit.

Die Dauer der Inkubation im Goldchloridbad konnte nach einigen Kontrolluntersuchungen bis auf 10 min bei Zimmertemperatur gesenkt werden. Das wurde möglich, weil die Originalangaben von *Tonutti* und *Plate (72)* sich auf eine Blockfärbung von mehreren Millimeter großen Objekten beziehen, hier aber die Darstellung der Ascorbinsäure im bereits fertigen Schnitt vorgenommen wird, so daß das Durchdringen des Gewebes nur kurze Zeit in Anspruch nimmt. Die Reduktion des Metall-

*) Den Mechanikermeistern, Herrn Otto, Bonn, und Herrn Reichel, Erlangen, sei für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Herstellung der erforderlichen Teile gedankt.

salzes in Anwesenheit von Vitamin C verläuft schnell, „die Ascorbinsäure ist ein extremes Redukton" *Giroud* und *Leblond (31)* und bedarf keiner langen Inkubationszeit.

Werden die Präparate nach der Reaktion mit Goldchloridlsg. nicht in Natriumthiosulfatlsg. gespült, tritt hier, ebenso wie bei der Silbernitratfärbung, ein Nachdunkeln und Verfärben der Objekte bei Lichteinfall auf, das sich beim Mikroskopieren und besonders in der photographischen Wiedergabe störend bemerkbar macht. Wegen der Bilddokumentation wurde auf eine Gegenfärbung der Präparate verzichtet. Die Kontrastierung mit roten Farbstoffen gibt in der Schwarz-Weiß-Photographie die gleichen Grauwerte wie die dunkelbraunen Granula der Goldchloridreaktion. Blaue Farbstoffe aber erschweren das Mikroskopieren der Objekte und die Bewertung der Metallniederschläge. Die feinere Beurteilung des ungefärbten Pulpengewebes ist für diese Arbeit von untergeordneter Bedeutung, da die für die Bestimmung der Lokalisation der Ascorbinsäure genügenden Differenzierungen vorhanden sind. Die in den photographischen Aufnahmen schwarz erscheinenden Stellen sind auf die Metallsalzreduktion zurückzuführen, und somit als Orte vermehrter Vitamin-C-Aktivität gekennzeichnet. Es muß hier jedoch auf Interferenzerscheinungen an Grenzflächen hingewiesen werden, die sich als Linien abzeichnen und daher leicht von den Orten der Ascorbinsäurereaktion unterschieden werden können.

5. Literatur zum Ascorbinsäurenachweis

Die Methode der Vitamin-C-Darstellung, ursprünglich den Ideen *Szent-Györgyis (65)* folgend, von *Bourne* (zit. b. Pearse *55*) entwickelt und von *Giroud* und *Leblond (30, 31, 32)* im Hinblick auf die Löslichkeit und schnelle Zerstörbarkeit des Vitamins bei der Gewebevorbehandlung verändert, wird immer wieder angezweifelt und als unspezifisch oder zu wenig spezifisch abgelehnt. *Harris* und *Ray (36)* finden im Nebennierenmark keine Niederschläge mit der von *Bourne* angegebenen Technik. Auch *K. F. Bauer (4)* meint, daß die Silbergranula im Gewebe keine Beziehung zum Vitamin C zu haben brauchen. *Clara (18, 19)* gibt eine Reihe von Substanzen an, die mit dem Silbernitrat reagieren und so eine positive Reaktion vortäuschen können. Es soll zu dieser Kritik auf die von *Giroud* und *Leblond (30, 31, 32, 33)* und von *Tonutti (68, 69, 70)* durchgeführten Kontrollversuche verwiesen werden, die am Vitamin C frei ernährten Tier einwandfrei zeigen, daß mit der von ihnen gewählten Versuchsanordnung eine weitgehende Spezifität zu erreichen ist. „Außer einem leicht im Kontrollpräparat erkennbaren Ferment der Melaninreihe" ruft neben der Ascorbinsäure keine andere körpereigene Substanz eine positive Reaktion hervor *(Tonutti 70)*. In der vorliegenden Arbeit wurde außerdem durch die Herabsetzung der Reaktionsdauer die Möglichkeit von Nebenreaktionen weitgehend eingeschränkt. Die Reaktionen wurden, den Anweisungen *Giroud* und *Leblond (30, 31, 32)* und *Tonuttis (70)* folgend, entgegen den Empfehlungen von *Pearse (55)*, bei Zimmertemperatur

durchgeführt, wobei nochmals auf die unterkühlten Schnitte hingewiesen werden soll. Warum *Pearse (55)* eine Inkubation bei 37° C empfiehlt, obwohl er in der Einleitung schreibt, daß durch Temperaturerhöhung Nebenreaktionen möglich sind, bleibt unverständlich. In der vorliegenden Arbeit sind daher mit großer Sicherheit die durch Metallniederschläge gekennzeichneten Orte als Vitamin-C-haltig zu bezeichnen.

Kontrollfärbungen wurden nach 20 min Erhitzen der Schnitte auf 68° C und damit sichere Zerstörung des Vitamin C durchgeführt. Sie zeigten keine Metallniederschläge in den Präparaten.

Daß trotz der von *Giroud* und *Leblond (30, 31, 32)* angegebenen Empfindlichkeit der Methode, die noch einen Nachweis von Ascorbinsäure bei einer Verdünnung von 1 : 50 000 erlauben soll, nicht das gesamte im Gewebe enthaltene Vitamin C erfaßt wird, wies *Clara (20)* nach. Er zeigte, daß an Eiweiß gebundene und in oxydierter Form im Gewebe vorliegende Ascorbinsäure nicht mehr Silbernitrat oder Goldchlorid reduziert, und daher durch diese Methode nicht dargestellt wird. Die Schwärzung der Reaktionsorte ergibt also keinen absoluten Wert für den Ascorbinsäuregehalt, sondern kennzeichnet nur ihre Gegenwart in reduzierter Form.

Für die Verwendung der 1% Goldchloridlösung *(Bourne* zit. b. Pearse *55, Tonutti* und *Plate 72)* gelten dieselben Gesichtspunkte bei der Bewertung wie für die Silbernitratlösung. Die Bedingungen für den Reaktionsablauf bleiben die gleichen.

IV. Befunde

Die Befunde an den zur Auswertung gekommenen Präparaten werden hier in der Reihenfolge der Altersstufen wiedergegeben. Es soll jeweils in einer Gruppe der Befund eines Präparates ausführlich, die übrigen jedoch nur in Stichworten kurz referiert werden. Auffallende Abweichungen werden dabei besonders hervorgehoben.

Gruppe I

Pr. Nr. 33 8 Jahre +4 Abb. 3–8

Der Zahn ist als Operationspräparat mit dem anhängenden Zahnsäckchen gewonnen. Das Wurzelwachstum ist etwa bis zu 2/3 der gesamten Wurzellänge abgeschlossen.

Bereits in der Übersicht fallen kräftige Metallniederschläge im Dentin und Schmelz auf. Im Bereich des gesamten pulpennahen Zahnbeins zeigt sich eine breite Zone vermehrten, positiven Reaktionsausfalls an der dem Zahnmark zugewandten Seite (Abb. 3). Bei stärkerer Vergrößerung löst sich diese Zone in Streifen verschiedener Farbintensität auf (Abb. 4). Das bereits mineralisierte, pulpennahe Dentin (Abb. 5a und b) ist wenig, die Grenze zwischen Prädentin und Dentin stark, das Prädentin kaum angefärbt. Im Odontoblastensaum zeigen sich ganz vereinzelt körnige Niederschläge. Sie sind nur bei starker Abblendung erkennbar, und als in den peripheren Zellanteilen der Odontoblasten liegend zu lokalisieren. In der gesamten übrigen Pulpa sind – auch perivasal – keine eindeutigen Reaktionsorte nachzuweisen.

Besonders deutlich sind die beschriebenen Erscheinungen im Bereich des Wurzelendes (Abb. 6, 7a und b) und der in Bildung begriffenen Bifurkation zu beobachten. Im Präparat der Bifurkationsbildung tritt pulpenwärts eine Erscheinung zutage, die besondere Aufmerksamkeit verdient. Der fertig ausgebildete und mineralisierte Dentinkern zeigt eine kräftige Färbung, es folgt ein reaktionsärmerer Rand, während die schmal und scharf ausgeprägte Grenze zwischen Prädentin und Dentin wiederum die gleiche Niederschlagsintensität aufweist wie der Dentinkern. Apicalwärts zeigen sich die gleichen Bilder wie sie an der Wurzelkanalwand zu sehen sind (Abb. 8). Das Weichgewebe an der apicalen Öffnung zeigt eine deutliche positive Ascorbinsäurereaktion.

Pr. Nr. 3 9 Jahre 4+ Abb. 9, 10

Der Vergleich mit dem vorhergehenden Präparat läßt auch hier die selben Erscheinungen deutlich werden. Eine Zone starker Reduktion zwischen Prädentin und Dentin, geringer positiver Reaktionsausfall im Dentin, fast fehlender im Odontoblastensaum (Abb. 9). Die in der Abb. 10 vereinzelt quer getroffenen Dentinkanälchen zeigen eindrucksvoll eine intensive Schwärzung ihres Inhaltes, während das übrige Prädentin nur wenig reagiert. An der Grenze zwischen Prädentin und Dentin aber ist

Abb. 1 Gerät zum Schneiden von Zahnhart- und Weichgeweben. 1. Mikrotom (Fa. Reichert, Wien), 2. Objekttischhub, 3. Vorschub, 4. Objekttischhalter, 5. Gefriertisch (Fa. Sartorius, Göttingen), 6. Kohlensäurezufuhr, 7. Düse zum zusätzlichen Kühlen von Objekt und Säge, Ventil für Zusatzdüse, 8. Gefriertischdüse, Ventil für Gefriertischdüse, 9. Mikrotomschlitten, 10. Vorschub für Sägeblatt, 11. Gegenlager der Antriebswelle, 12. Sägeblatt, 13. Spritzschutz.

Abb. 2 Gerät zum Schneiden von Zahnhart- und Weichgeweben. 1. Mikrotom, 2. Objekttischhub, 4. Objekttischhalter, 9. Mikrotomschlitten, 10. Vorschub für Sägeblatt, 11. Gegenlager der Antriebswelle, 12. Sägeblatt (63 × 0,5 × 16 HSS), 13. Spritzschutz, 14. Mikrometerschraube zum Einstellen des Vorschubs, 15. Antriebswelle (Technikhandstück der Fa. Kaltenbach und Voigt Nr. 277).

Abb. 3 Pr. Nr. 33 +4 8 Jahre Goldchloridreaktion Vergr.: 5 : 1
Übersicht zu den Aufnahmen 4–8.

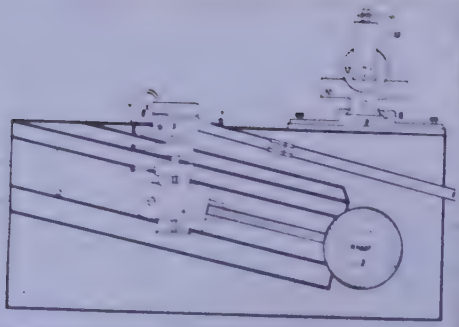
Abb. 4 Ausschnittvergr. aus Abb. 3 Vergr.: 160 : 1
Von rechts nach links: Dentin, Zone der Mineralisation, Prädentin, Pulpa. Starke Vitamin-C-Reaktion zwischen Dentin und Prädentin, geringere im Dentin, fast fehlende im Prädentin.

Abb. 5a Ausschnitt aus Abb. 3 Vergr.: 360 : 1
Vitamin-C-Reaktion in den Dentinkanälchen des pulpennahen Dentins.

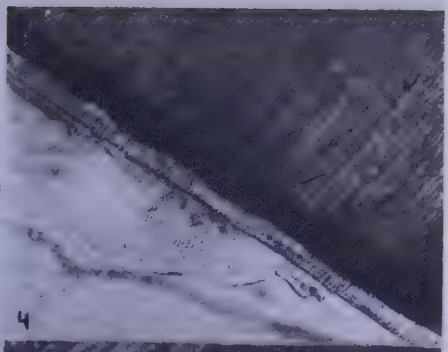
Abb. 5b Vergr.: 800 : 1
Starke Vergrößerung aus Abb. 5b. Deutlich ist hier die Reaktion in den einzelnen Verzweigungen der Dentinkanälchen erkennbar.

Abb. 6 Pr. Nr. 33 Goldchloridreaktion Vergr.: 80 : 1
Wurzelende. Kräftige Vitamin-C-Reaktion sowohl an der pulpalen als auch an der periodontalen Wand. Hier in dieser schwachen Vergrößerung wird auch die geringe Reaktion im Odontoblastensaum erkennbar.

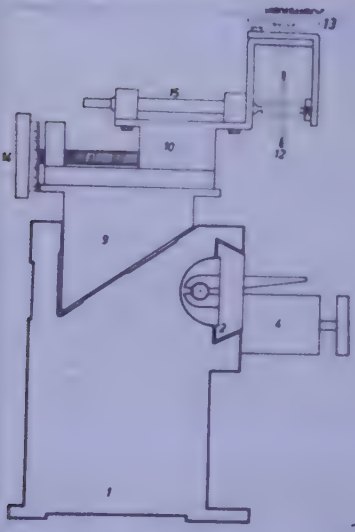
Abb. 7a Ausschnittvergr. aus Abb. 3 Vergr.: 100 : 1
Dentinbildung oberhalb der Wurzelspitze. Übersicht zu Abb. 7b Ausschnitt aus der Bildmitte.



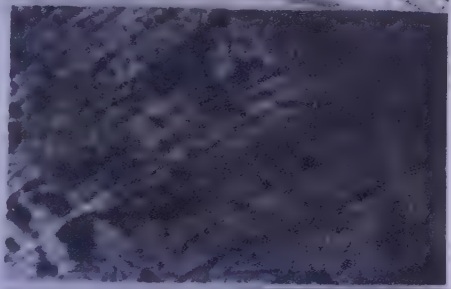
1



4



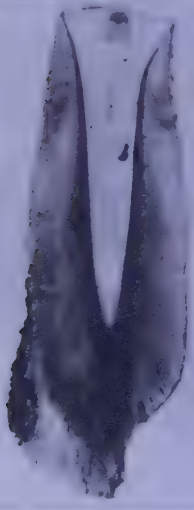
2



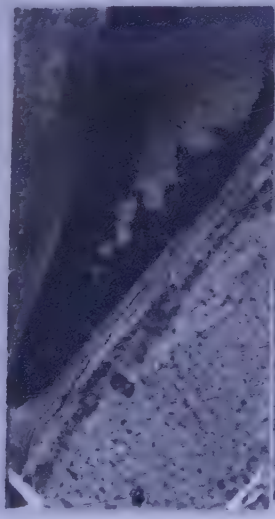
5a

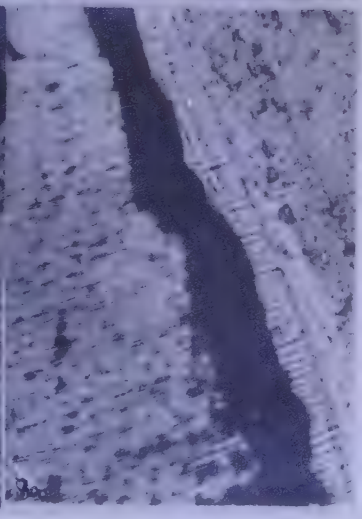
5b

SEITENANSICHT



3





3a

die Schwärzung so kräftig und konfluierend, daß Einzelheiten der Struktur nicht mehr darzustellen sind. In anderen Präparaten aber wird besonders deutlich, daß der größere Anteil an Vitamin C in dieser Zone extracellulär – also nicht an die Tomes'schen Fasern und die Dentinkanälchen gebunden ist (siehe Abb. 24).

Pr. Nr. 4 12 Jahre +4

Ebenso wie die vorhergehenden Präparate wurde dieser Zahn als Operationspräparat mit anhängendem Zahnsäckchen gewonnen.

Bereits in der Übersicht ist eine kräftige Färbung im Dentin, eine schwächere im Schmelz, deutlich erkennbar. Parallel zur Pulpa zieht ein schwarzer Saum, der sich bei stärkerer Vergrößerung wiederum an der Grenze zwischen Prädentin und Dentin lokalisieren läßt. Im Prädentin ist nur ein geringer positiver Reaktionsausfall, im Odontoblastensaum keiner zu beobachten. Bei weiterer Vergrößerung sind in der Nähe der Odontoblasten-Kerne vereinzelte dunkle Körnchen erkennbar, die als Metallsalzniederschlag angesehen werden können. Auch perivasal sind an diesem Präparat eine geringe Zahl schwarzer Granula aufzufinden.

Pr. Nr. 17 12 Jahre −5

Pr. Nr. 27 13 Jahre 5+

Es zeigen sich die gleichen Befunde wie in den Präparaten 3 und 4. Kein positiver Reaktionsausfall in der Odontoblastenreihe, geringe Anfärbbarkeit des Prädentins, intensive Schwärzung in der Zone der Mineralisation, geringe im Dentin. Die Pulpa ist ohne Befund.

Pr. Nr. 5 15 Jahre +3 Abb. 11

In diesem Präparat läßt sich ein Befund erheben, der besondere Aufmerksamkeit verdient. In der „optisch leeren Zone" zwischen dem Prädentin und Odontoblastensaum liegt eine Zone, die bei schwacher Vergrößerung zunächst als präparatorischer Spalt gedeutet wurde, bei starker Vergrößerung jedoch sind vom Odontoblastensaum ausgehend bis in das Prädentin hinein Zellfortsätze zu beobachten (Abb. 11). Da dieser Spalt sich in der Nähe der noch nicht voll ausgebildeten Wurzelspitze findet und regelmäßig, parallel zum Prädentin, verläuft, kann diese „optisch leere Zone" als Vorstufe des Prädentin gedeutet werden. Leider kann über ihr sonstiges färberisches Verhalten nichts ausgesagt werden. Positive Ascorbinsäurereaktion ist nicht feststellbar.

Die übrigen Befunde decken sich mit denen der bereits beschriebenen Präparate.

Gruppe II

Die Gruppe II der 16- bis 25jährigen entfällt, da in ihr keine Zähne untersucht wurden.

Gruppe III

Pr. Nr. 35 27 Jahre 5—

Die Präparate dieses Zahnes zeigen eine starke Anfärbbarkeit in allen dargestellten Geweben. Lediglich der Schmelz weist nur geringe Imprägnation mit Metallniederschlägen auf. Von der Schmelz-Dentin-Grenze an bis zur Pulpa nimmt die Schwärzung ständig zu, so daß im, dem Zahnmark benachbarten, Dentin keine Struktureinzelheiten erkennbar werden. Deutlich sind hier die Odontoblasten und ihre Fortsätze im Prädentin als Orte von Ascorbinsäurereaktion zu sehen. In den Odontoblasten sind es vor allem die peripheren Anteile der Zelle, die Reduktionsorte aufweisen, während der Kern und der zentrale Plasmaanteil freibleiben. An der Grenze zwischen Prädentin und Dentin ist dann wiederum, wie in der Gruppe I eine stärkere Ansammlung von Metallniederschlägen festzustellen, die hier sowohl extracellulär als auch in den Odontoblastenfortsätzen zu finden sind. In der Pulpa sind perivasculär zahlreiche Reaktionszentren.

Pr. Nr. 1 30 Jahre 8+ Abb. 12—16

Die gleichen Erscheinungen wie in den Präparaten des Zahnes Pr. Nr. 35 sind auch hier zu beobachten. Von der Peripherie her zur Pulpa zunehmende Vitamin-C-Reaktion (Abb. 13). Eine kräftig ausgeprägte Mineralisationszone — wenig schmaler als die der Gruppe I — charakterisiert die Präparate dieses Zahnes. Im Prädentin ist wiederum nur geringe Aktivität zu beobachten, während in der Odontoblastenreihe Granula sichtbar werden (Abb. 14). Bei stärkerer Vergrößerung zeigt sich, daß sich die Reaktionsorte diffus über die gesamte Zelle verteilen. Im Kerngebiet ist keine stärkere Färbung als im Plasma. Vereinzelt kommt es zu stärkerer Ansammlung von Metallniederschlägen an der Odontoblasten-Prädentin-Grenze. In dem lockeren Bindegewebe der Pulpa ist die Reaktion minimal, nur perivasal lassen sich zahlreiche Niederschläge nachweisen.

Pr. Nr. 10 32 Jahre 321—1 Abb. 17—19

Zunehmende Schwärzung von peripher nach zentral. An der Wand des Zahnmarkes sind bei schwacher Vergrößerung wegen der starken Ascorbinsäurereaktion keine Struktureinzelheiten erkennbar. In der Pulpa sind die Gefäßwände kräftig angefärbt (Abb. 17). Die an der Wand des Gefäßes zu beobachtenden Endothelzellen reagieren kräftig. In der Nähe des Gefäßes ist eine beginnende Hartgewebsneubildung zu beobachten, bei der Odontoblasten strahlenförmig um den Dentikel angeordnet sind (Abb. 18). Auch hier sind im Odontoblastensaum wieder die gleichen Erscheinungen festzustellen, wie im Präparat Nr. 35 derselben Gruppe (Abb. 19). Basal der Odotoblastenreihe, extracellulär, zeigen sich Metallniederschläge. Das Pulpengewebe ist weitgehend frei von Vitamin C.

Pr. Nr. 32 33 Jahre 3—

Die Befunde entsprechen den in dieser Gruppe erhobenen. Unterschiede zu den anderen Präparaten sind nicht erkennbar. Eine besondere Beschreibung erübrigt sich. Im Dentin, zur Pulpa hin, zunehmende Reaktion. Vitamin C in der Odontoblastenreihe und perivasal.

Abb. 7b Vergr.: 800 : 1
Dentin mit einzelnen stark positiv reagierenden Odontoblastenfortsätzen, Mineralisationszone: Struktureinzelheiten sind nicht mehr erkennbar, Prädentin, Odontoblastensaum.

Abb. 8 Vergr.: 20 : 1
Bildung der Bifurkation. Der Dentinkern ist reaktionsschwach. Es folgt im Dentin eine Zone stärkerer Vitamin-C-Färbung, die wiederum von schwächer reagierendem Dentin umgeben ist. Die Grenze zwischen Prädentin und Dentin tritt nicht auffallend hervor, das Prädentin reagiert schwach. Auffallend kräftig reagieren der Odontoblastensaum und das apicale Gewebe.

Abb. 9 Pr. Nr. 3 4+ 9 Jahre Goldchloridreaktion
Vergr.: 160 : 1
Dentin, Mineralisationszone, Prädentin, Pulpa. Keine auffallenden Unterschiede zu den anderen Präparaten dieser Altersgruppe.

Abb. 10 Vergr.: 160 : 1
Bifurkationsbildung. Quer getroffene Dentinkanälchen, deren Inhalt eine kräftige Vitamin-C-Reaktion zeigt (obere Bildmitte).

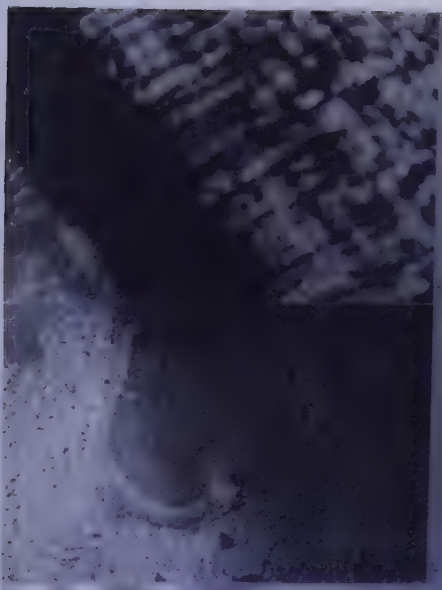
Abb. 11 Pr. Nr. 5 Goldchloridreaktion Vergr.: 360 : 1
Odontoblastenfortsätze in „optisch leerer Zone" zwischen dem Prädentin und dem Odontoblastensaum.

Abb. 12 Pr. Nr. 1 8+ 30 Jahre Goldchloridreaktion
Vergr.: 4 : 1
Übersicht zu den Abbildungen 13–16.

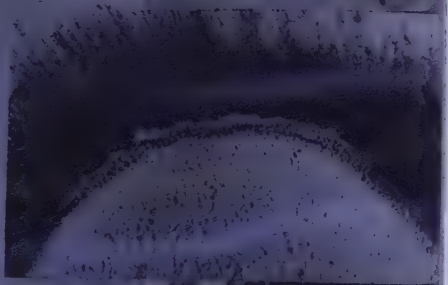
Abb. 13 Vergr.: 60 : 1
Mesiales Pulpenhorn. Von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zur Mineralisationszone zunehmende Reaktion.

Abb. 14 Vergr.: 270 : 1
Körnige, über die Odontoblastenreihe gleichmäßig verteilte, Reaktion. Das Vitamin C ist gleichmäßig über den gesamten Zelleib verteilt.

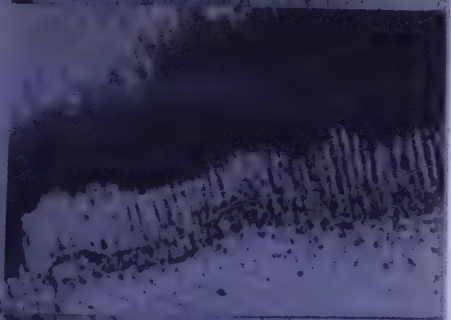
Abb. 15 Vergr.: 60 : 1
Tomes'sche Körnerschicht an der Grenze von Dentin und Zement.



12



1



14

10

11

Gruppe IV

Pr. Nr. 15 37 Jahre 87654+
Pr. Nr. 28 39 Jahre —4
Pr. Nr. 29 43 Jahre +7

Die Befunde in den Präparaten der Gruppe IV weisen weitgehende Übereinstimmung mit denen der Gruppe III auf, so daß sich eine besondere, ins einzelne gehende Besprechung dieser Zähne erübrigt. Es zeigt sich in allen Geweben eine kräftige Imprägnation mit Metallniederschlägen. Nur der Schmelz ist in dieser Gruppe erstmalig ohne Vitamin C. Die Intensität der Niederschläge nimmt von der Peripherie bis zur Pulpa hin zu. Die Mineralisationszone ist deutlich schmaler als in den Präparaten der Gruppe III, ebenso wie das Prädentin nicht so breit angelegt ist. Im Odontoblastensaum ist eine geringe Ansammlung körniger Niederschläge, gleichmäßig über die Zelle verteilt, sichtbar. Das Gewebe des Zahnmarkes ist reaktionslos bis auf vereinzelte perivasale Bezirke, die in der Intercellularsubstanz geringe Ascorbinsäurereaktion aufweisen.

Besonderheiten lassen sich in dieser Gruppe nicht finden.

Gruppe V

Pr. Nr. 26 48 Jahre 7+ Abb. 20

Bei der Gruppe V fällt ganz allgemein die relative Reaktionsarmut auf. Obwohl in allen Geweben des Zahnes Vitamin C nachweisbar ist, bleibt doch die Reaktionsstärke weit unter der der bisher beschriebenen Gruppen. Im Prädentin fehlt die Reaktion fast vollständig, ebenso im Odontoblastensaum, nur in der Mineralisationszone ist eine geringe Anfärbbarkeit zu beobachten. Minimal ist auch die Reaktion im Dentin (Abb. 20). Die Pulpa bleibt reaktionslos, bis auf geringe perivasale Niederschläge.

Pr. Nr. 13 52 Jahre 4321— Abb. 21—24

Etwas kräftiger fallen die Metallniederschläge in den Zähnen dieses Patienten aus. Obwohl auch hier die Schwärzung der Gewebe weit hinter denen der vorher beschriebenen Gruppen zurückbleibt.

In der Übersicht (Abb. 21) zeigt sich die lokal ausgeprägtere Reaktion eines Dentinstreifens. Hier ist, auch in der stärkeren Vergrößerung, die Ascorbinsäure-Aktivität in der Mineralisationszone (Abb. 22) und im Odontoblastensaum (Abb. 23) deutlich. Doch zeigen die übrigen Präparate einen ähnlichen Befund wie die Schnitte von Pr. Nr. 26, ganz geringe Reaktionen im Odontoblastensaum und in der Mineralisationszone, völliges Fehlen von Ascorbinsäure im Prädentin. Im Kronenbereich ist die Pulpawand in der Mineralisationszone flach angeschnitten. Man sieht hier die körnigen Metallniederschläge der Vitamin-C-Reduktion besonders deutlich (Abb. 24).

Gruppe VI

Die Präparate dieser Gruppe sind, wahrscheinlich durch Lichteinwirkung bei unzureichender Fixation, verfärbt. Auf eine Auswertung wurde deshalb verzichtet.

Gruppe VII

Pr. Nr. 14 71 Jahre 65+

Obwohl die Pulpen dieser Zähne bereits weitgehende degenerative Veränderungen aufweisen, ist doch eine positive Vitamin-C-Reaktion darstellbar. Hier sind es besonders die noch erhaltenen Odontoblasten und die zentralen Anteile ihrer Fortsätze, die einen, nach der Farbintensität zu werten, relativ hohen Anteil an Vitamin C besitzen. Auch perivasculär ist Ascorbinsäure nachweisbar. Das übrige mit zahlreichen zystischen Hohlräumen durchsetzte Pulpengewebe ist reaktionsarm. Eine deutlich ausgeprägte Mineralisationszone ist nicht mehr zu beobachten. Das Prädentin ist nur als sehr schmaler Saum erkennbar und bleibt ohne Metallniederschläge.

Pr. Nr. 12 74 Jahre 234–

Wie in Pr. Nr. 14 sind auch hier die Odontoblasten und ihre Fortsätze anfärbbar. Die Pulpen sind nicht so weitgehend degenerativ verändert, wie bei den Zähnen des vorhergehenden Patienten. Im Vitamin-C-Nachweis herrscht weitgehend Übereinstimmung mit den anderen Zähnen dieser Gruppe.

Gruppe VIII

Pr. Nr. 16 78 Jahre –3456

Die Befunde der Zähne dieser Gruppe entsprechen vollständig denen der Gruppe VII. Die Pulpa, der sehr schmale Prädentinsaum und das Dentin sind ebenso wie der Schmelz ohne Reaktion. Eine „Mineralisationszone" fehlt in den Präparaten dieser Zähne ganz. Nur im Odontoblastensaum ist eine geringe Ascorbinsäure-Aktivität nachweisbar. In den Schnitten dieser Zähne ist auch perivasculär nur wenig Vitamin C zu erkennen. Das Zahnmark zeigt keine degenerativen Veränderungen.

Abb. 16 Vergr.: 270 : 1 (nachvergrößert: 10 : 1)
Körnerschicht: 1. Faserbündel, 2. knäuelförmige Odontoblastenfasern, 3. kolbenförmige Enden, 4. Fasern des primären Zementes.

Abb. 17 Pr. Nr. 13 Goldchloridreaktion Vergr.: 60 : 1
Wand eines Gefäßes in der Pulpa. Kräftige Reaktion der Endothelien. Darunter beginnende Dentikelbildung.

Abb. 18 Vergr.: 270 : 1
Odontoblasten – strahlenförmig um einen Dentikel angeordnet (oberer Rand der Dentikelbildung aus Abb. 17).

Abb. 19 Vergr.: 100 : 1
Odontoblasten an der Wurzelkanalwand. Das angrenzende Pulpenbindegewebe zeigt keine Vitamin-C-Reaktion.

Abb. 20 Pr. Nr. 26 7+ 48 Jahre Goldchloridreaktion Vergr.: 60 : 1
Reaktionsarmut in Dentin und Mineralisationszone, fehlende Reaktion im Prädentin und im Odontoblastensaum.

Abb. 21 Pr. Nr. 13 Goldchloridreaktion Vergr.: 35 : 1
Übersicht zu Abb. 22–24.
Nur an einigen Stellen stärkere Vitamin-C-Reaktion. Selbst in der Mineralisationszone ist sie nur gering.

Abb. 22 Vergr.: 270 : 1
Von oben nach unten: Dentin, Mineralisationszone, Prädentin, Pulpa. Der Prädentinsaum ist schmal, die Reaktion in der Mineralisationszone ist gering. Struktureinzelheiten werden durch die geringe Anfärbbarkeit erkennbar.

Abb. 23 Vergr.: 270 : 1
Odontoblastensaum. Nur einzelne Zellen zeigen eine positive Vitamin-C-Reaktion.

Abb. 24 Vergr.: 270 : 1
Mineralisationszone mit quergeschnittenen Reaktionszentren in der „Interzellularsubstanz", die Odontoblastenfortsätze in den Dentinkanälchen sind z. T. reaktionslos.

V. Ergebnisse

Wenn man die tabellarische Zusammenfassung der Befunde der 6 untersuchten Gruppen näher betrachtet, so wird deutlich, daß mit zunehmendem Alter die Vitamin-C-Reaktion in den Hartgeweben des Zahnes abnimmt.

Gruppe	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Schmelz	+		(+)	∅	∅		∅	∅
Dentin	++		++	+	(+)		(+)	∅
Mineralisationszone	+++		+++	++	+		∅	∅
Prädentin	(+)		(+)	(+)	∅		∅	∅
Odontoplasten	((+))		+	+	(+)		(+)	(+)
Pulpa	∅		++	+	(+)		(+)	(+)

Zuerst wird der Schmelz, der selbst im jugendlichen Zahn nur geringe Vitamin-C-Aktivität zeigt, betroffen. Bereits im dritten Lebensjahrzehnt ist in der Substantia adamantina Ascorbinsäure nicht mehr darstellbar. Nur kurze Zeit später nimmt auch die Vitamin-C-Reaktion im Prädentin ab, um nach dem vierten Jahrzehnt nur in den das Prädentin durchziehenden Odontoblastenfortsätzen in geringer Menge nachweisbar zu sein. Wenn auch in der „Mineralisationszone", der Grenze zwischen Prädentin und Dentin, das Vitamin C erst nach dem fünften Lebensjahrzehnt verschwindet, so ist doch auch hier schon nach dem dritten eine deutliche Abnahme der Reduktionsintensität zu bemerken. Lediglich im Dentin bleibt bis zur VII. Gruppe, also bis zu etwa 75 Jahren, Vitamin C in den Odontoblastenfortsätzen nachweisbar, wenn auch hier das Nachlassen der Anfärbbarkeit deutlich wird.

Anders verhält sich das Zahnmark. Der Odontoblastensaum, der zunächst die geringste Ascorbinsäure-Aktivität aufweist, zeigt in der III. und IV. Altersstufe eine deutliche Zunahme, die, wenn auch mit abnehmender Intensität, bis zur VIII. Gruppe anhält. Ebenso verhält sich das perivasculäre Gewebe. Die im jugendlichen Zahn zunächst fehlende Reaktion wird in der III. Gruppe stark positiv, um sich dann wieder etwas zu verringern. Sie bleibt jedoch bis zur letzten Gruppe nachweisbar.

Daraus ergibt sich:

1. Das Vitamin C ist im pulpagesunden, bleibenden Zahn vorwiegend an der Grenze zwischen Prädentin und Dentin lokalisiert. Es zeigt sich hier eine Zone stärkster Anfärbbarkeit, die z. T. durch übermäßige Schwärzung des Gewebes jede Struktureinzelheit untergehen läßt. Dieser Saum wird kurz als „Mineralisationszone" bezeichnet. Weitere Orte der Ascorbinsäure-Lokalisation sind die Odontoblastenfortsätze. Im jugendlichen Zahn ist diese Aktivität bis in die feinsten Ausläufer der reich verzweigten Tomes'schen Fasern zu beobachten.

2. Die Fragen der Verteilung in verschiedenen Lebensaltern und der Verschiebung in der Lokalisation des Vitamin C während einzelner Lebensperioden können gemeinsam beantwortet werden. Die Ascorbinsäure-Verteilung ändert sich mit zunehmendem Lebensalter. Von den Zahnhartgeweben verschiebt sich die Lokalisation auf das Zahnmark bei ständig abnehmender Reaktionsintensität. Die Reduktion des Goldchlorids, als Ausdruck der vorhandenen Ascorbinsäuremenge, kann, auch wenn keine exakten Zahlenangaben im histologischen Schnitt möglich sind, durchaus gewertet werden. Die Mineralisationszone, als Ort der größten Vitamin-C-Aktivität, ist in den Zahnhartsubstanzen die letzte Zone, die ihre Reaktionsfähigkeit einbüßt. Erst im 7. und 8. Lebensjahrzehnt verliert sie die Fähigkeit, Silbernitrat zu reduzieren.

Wesentlich eher schwindet im Schmelz und im peripheren Dentin die Ascorbinsäure-Aktivität. In den Tomes'schen Fasern des Dentins nimmt mit zunehmendem Alter der Vitamin-C-Gehalt der peripheren Anteile ab. Mit der Verkleinerung des Dentinkanaldurchmessers und dem Verlust von Seitenverzweigungen der Odontoblastenfortsätze läßt die Reduktionsfähigkeit nach. In den Odontoblasten und in den zentralen Anteilen ihrer Zellfortsätze bleibt Vitamin C bis zum Lebensende erhalten. Ebenso ist bis ins hohe Alter Ascorbinsäure-Aktivität im perivasculären Gewebe der Pulpa nachweisbar.

VI. Deutung der Befunde

Für die Deutung der Befunde soll zunächst auf die Untersuchungen von *Höjer* und *Westin (40)* und die Bestätigung ihrer Ergebnisse durch *E.* und *O. Walkhoff (74, 75)* hingewiesen werden. Sie fanden „eine amorphe Verkalkung der dentinogenen Zone" als erstes Symptom des beginnenden Skorbuts im Zahnmark.

Daraus läßt sich ableiten, daß das Vitamin C für die geordnete Mineralisation der Zahnhartsubstanzen eine wesentliche Bedeutung besitzt. Vergleicht man die beschriebenen Befunde, insbesondere die auffallende Konzentration der Ascorbinsäure an der Grenze zwischen dem Prädentin und Dentin des jugendlichen Zahnes, mit den Ergebnissen der Untersuchungen am skorbutkranken Tier und der „amorphen Verkalkung", so scheint das Vitamin C für eine reguläre Kristallbildung verantwortlich zu sein. An welcher Stelle der fermentativen Vorgänge die Ascorbinsäure in das System der Dentinbildung eingreift, kann bei dem heutigen Stand unseres Wissens nicht mit Sicherheit gesagt werden.

Die Arbeiten von *Hofmann* und *Staudinger (42)* und *Bacchus (2)* belegen, daß das Vitamin C bei der Fermentbildung beteiligt ist. Doch muß für die vorliegende Arbeit offen bleiben, ob die Katalysierung der Enzymbildung für die Mineralisation des Dentins die Aufgabe des Vitamin C darstellt. Es müßte sich dann vorwiegend im Odontoblastensaum und den

Tomes'schen Fasern finden. Hier jedoch ist die Konzentration der Ascorbinsäure gerade im jugendlichen Zahn so gering, daß man annehmen muß, daß die Odontoblasten nur die Rolle des Transportorganes an der Stelle ihrer Wirkung übernehmen. Wesentlich einleuchtender ist anzunehmen, daß das Vitamin C hier als Enzymaktivator fungieren könne. So ist bekannt, daß die Wirkung von Papain, Kathepsin, β-Amylase, Urease und Arginase bedeutend durch das Vorhandensein von Vitamin C gesteigert wird. *Causi* und *Romano (17)* und *Takeda* und *Hara (66)*. Die Wirkung als Enzymaktivator auf Phosphatasen wurde von *v. Euler* und *Svennson (26)* nachgewiesen. Daß die Phosphatasen bei der Bildung der Zahnhartsubstanzen eine wesentliche Rolle spielen, ist durch die Arbeiten von *Eggers-Lura (23)* und *Naujoks (53)* bewiesen.

Die Wirkung der Ascorbinsäure scheint jedoch nicht ausschließlich auf der Aktivierung der Phosphatasen zu beruhen. Gleichzeitig verhindert sie offenbar eine überstürzte Mineralisation, wie sie bei der „amorphen Verkalkung" des skorbutkranken Tieres auftritt, *Höjer* und *Westin (40)* und *O. Walkhoff (75)*. Daß es auch im Pulpencavum zu ungeordneten, überstürzten Einlagerungen von Kalksalzen kommt, zeigen die Untersuchungen der oben genannten Autoren beim fortgeschrittenen Skorbut, wo schon 14 Tage nach dem Entzug von Vitamin C eine „Metaplasie" der Pulpa, in Form von „geflechtartigen Bindegewebsknochen" zu beobachten ist.

Als weiterer Beleg für diese Vermutungen kann ihre Aktivitätsminderung mit zunehmendem Lebensalter im Dentin gewertet werden. Es ist bekannt, daß die sogenannte Sekundärdentinbildung im Laufe des Lebens abnimmt. So wird auch das Abnehmen der Reaktion in den Zahnhartsubstanzen verständlich. Besonders muß hier auf die Befunde in den Verzweigungen der Dentinkanälchen mit ihrem großen Vitamin-C-Reichtum im jugendlichen Zahn hingewiesen werden. Sie zeigen deutlich durch ihr Verschwinden mit fortschreitendem Alter, daß hier das Vitamin C bei der Bildung von Dentin wesentliche Aufgaben erfüllt.

Daß gerade diese Befunde leicht mißdeutet werden können, soll besonders hervorgehoben werden. Bekanntlich ist durch die Silberniederschlagsfärbungen das Präkollagen gut darstellbar und stört häufig die Befunderhebung bei Nervfärbungen *(O. Bock, 8)*. Doch muß für die vorliegende Arbeit angenommen werden, daß es sich nicht um Präkollagen handelt, das sich im histologischen Schnitt als Faser darstellt, während hier die typischen Granula beobachtet werden (Abb. 5a und b). In den Kontrollpräparaten färbten sich diese Bezirke nicht an.

So kann also aus der vorliegenden Arbeit in Verbindung mit den Beobachtungen von *v. Euler* und *Svennson (26)*, *Höjer* und *Westin (40)* und *E.* und *O. Walkhoff (74, 75)* angenommen werden, daß die Ascorbinsäure bei der Bildung des Dentins die Aufgabe der Aktivierung der Phosphatase und Lenkung eines geordneten Kristallaufbaues übernimmt.

VII. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden an lebensfrischen, tiefgekühlten Zähnen histochemisch die Lokalisation des Vitamin C in der gesunden Pulpa und im Dentin in den verschiedenen Lebensaltern bestimmt.

Dabei ergab sich:

1. Im jugendlichen Zahn ist das Vitamin C vorwiegend an der Grenze zwischen Prädentin und Dentin, der sogenannten Mineralisationszone, darzustellen.

2. Mit zunehmendem Alter findet eine Verschiebung der Ascorbinsäure von den Zahnhartsubstanzen auf den Odontoblastensaum und das perivasculäre Gewebe statt.

Die Befunde lassen folgende Deutungen zu:

1. Die Aktivierung der für die Mineralisation der Zahnhartsubstanzen notwendigen Phosphatasen erfolgt offenbar durch die Ascorbinsäure.

2. Vitamin C scheint für einen geordneten Kristallaufbau im Dentin erforderlich zu sein.

1. Literaturnachweis

1. Aoki T. — Nippon. Shik. Gakk. Zass. 29, 1936, 1, 832 Ref. Dtsch. Zahn-, Mund-, Kieferhlkd. 3, 1938, 48
2. Bacchus H. — Amer. J. Physiol. 188, 1957, 297
3. Baud C. A. Morgenthaler P. W. — Bull. Micr. appl. 9, 1959, 101
4. Bauer K. F. — Zschr. wiss. Mikr. 59, 1943, 2, 142
5. Baumann O. — Med. Diss. Würzburg 1944
6. Berthensen L. — Dtsch. Archiv klin. Med. 40, II u. III, 1892
7. Bloch A. — Med. Diss. Basel 1938
8. Bock O. — Dtsch. zahnärztl. Zschr. 15, 1960, 11, 838; 12, 889
9. Bödecker C. F. — Dent. Cosmos LXVIII 1926, 9, 861
10. Branchini C. — Dtsch. Zahn-, Mund-, Kieferhlkd. 8, 1941, 1, 11
11. Breuer K., Kaldarar M. — Ceskost. Stomat. 38, 1938, 7, 341
12. Breuer K., Hynek L. — Ceskost. Stomat. 38, 1938, 7, 337
13. Brinch O. — Dtsch. Zahn-, Mund-, Kieferhlkd. 4, 1937, 5, 297
14. Brinch O. — Odont. Tidskr. 46, 1948, 4
15. Büttner W. Cremer H. D. Herrmann M. — Dtsch. zahnärztl. Zschr. 11, 1956, 17, 984
16. Burrell D. Y. — J. dent. Res. 21, 1942, 4, 353
17. Causi N., Romano A. — Boll. Soc. ital. biol. sper. 34, 1958, 476
18. Clara M. — Mikroskopie 7, 1952, 387
19. Clara M. — Vitamins and Hormons 6, 1953, 12
20. Clara M. — Zschr. Zellforschg. 31, 1941, 364
21. Dalderup L. M., Jansen B. — Intern. Review Vitamin Res. 26, 1955, 235
22. Demole V., Cahen P., Pfaltz H — Klin. Wschr. 14, 1935, 27, 966
23. Eggers Lura H. — Die Enzyme des Speichels und der Zähne Carl-Hanser-Verlag München 1949
24. Eickermann M. — Med. Diss. Mainz 1952
25. Euler H. v. — Ergeb. Vitamin-Hormonforschg. I, 1938, 159
26. Euler H. v., Svensson T. — Svensk. kem. Tidskr. 47, 1936, 16
27. Fitzsimmonds L. J. — J. amer. dent. Assoc. 29, 1942, 5
28. Frank A. — Med. Klinik XXII, 1926, 1591
29. Fullmer H. M. Martin G. R., Burns J. J. — Annals New York Academy of Scinces 92, 1961, 286
30. Giroud A., Bulliard H. — Bulletin d'histologie XI, 1934, 169
31. Giroud A., Leblond C. P. — Bulletin d'histologie XI, 1934, 365
32. Giroud A., Leblond C. P. — Bulletin d'histologie XI, 1934, 375
33. Giroud A., Leblond C. P. — Nature Lond. 138, 1936, 247

34. Glanzmann E. Ergb. Vitamin-Hormonforschg. Bd. 1, 1938, 1
35. Graumann W. Neumann K. H. Handbuch der Histochemie Bd. I Gustav-Fischer-Verlag Stuttgart 1958
36. Harris L. J., Ray S. H. Biochem. J. 27, 1933, 2006
37. Hecht S. Med. Diss. Heidelberg 1911
38. Heilmeyer Ludwig Lehrbuch der speziellen patholpgischen Physiologie Gustav-Fischer-Verlag Jena 1945
39. Held A. J., Baud C. A., Piore G. Arch. oral. Biol. 4, 1961, 1
40. Höjer, Westin Vrtljschr. f. Zahnhlkd. XL, 1924, 247
41. Hof L. Med. Diss. Münster 1942
42. Hofmann H., Staudinger H. J. Arzneimittel-Forschg. 1, 1951, 9, 416
43. Holtz Zschr. Physiol. Chem. 1940, 263, 187
44. Holtz, Walter Klin. Wschr. 19, 1940, 136
45. Hunt A. M., Paynter K. J. J. dent. Res. 38, 1959, 2, 232
46. Jansen M. J. dent. Res. 29, 1950, 401
47. König K. G., Mathaler Th. M., Mühlemann H. R. Dtsch. Zahn-, Mund-, Kieferhlkd. 29, 1958, 3/4, 99
48. Leuthardt F. Lehrbuch der physiologischen Chemie de Gruyter & Co. Berlin 1957
49. Liebaldt E. Protoplasma XXXI, 1938, 267
50. Liotta D. Annal. di Odontologia 1925, 6, 140
51. Marx H. B. Med. Diss. Bonn 1951
52. Noak F. Zahnärztl. Rdsch. 69, 1960, 4, 138
53. Naujoks R. Dtsch. Zahn-, Mund-, Kieferhlkd. 24, 1956, 7/8, 265
54. Ontrup D. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 15, 1960, 2, 58
55. Pearse E. Histochemistry Little Brown & Co. Boston 1961
56. Popowa G. Med. Diss. München 1943
57. Romeis B. Mikroskopische Technik R. Oldenbourg München 1948
58. Roulet F. Methoden der pathologischen Histologie Springer-Verlag Wien 1948
59. Schneider M. Dtsch. zahnärztl. Zschr. 1938, 17, 395
60. Schour, Massler J. amer. dent. Assoc. 28, 1941, 1153
61. Schweidler E. v. Lechers Lehrbuch der Physik B. G. Teubner Leipzig und Berlin 1944
62. Seitz W. Zschr. Vitaminforschg. 9, 1939, 1/2, 32
63. Sortino G. Minerva stomat. Torino 8, 1958, 1, 40

64. Stepp W., Kühnau J., Schroeder H. — Die Vitamine und ihre klinische Anwendung Bd. II Ferdinand-Enke-Verlag Stuttgart 1957
65. Szent-György A. v. — Biochem. J. 22, 1928, 1387, zit. b. H. v. Euler
66. Takeda Y., Hara M. — J. Biol. Chem. 1955, 214, 657
67. Thomas I. — Med. Diss. Würzburg 1953
68. Tonutti E. — Zschr. Vitaminforschg. 9, 1939, 4, 349
69. Tonutti E. — Klin. Wschr. 16, 1937, 24, 861
70. Tonutti E. — Protoplasma XXXI, 1938, 151
71. Tonutti E., Matzner — Klin. Wschr. 17, 1938, 2, 63
72. Tonutti E., Plate — Arch. Gynäk. 1938, 385
73. Tonutti E., Wallraff J. — Klin. Wschr. 17, 1938, 24, 855
74. Walkhoff E. — zit. b. O. Walkhoff
75. Walkhoff O. — Die Vitamine in ihrer Bedeutung für die Entwicklung, Struktur und Widerstandsfähigkeit der Zähne gegen Erkrankungen Verlag H. Meusser Berlin 1929
76. Westin — Dental Cosmos LXVII, 1925, 9, 868
77. Yale S. H., Jeffay H., Wach E. — J. dent. Res. 38, 1959, 4, 729

2. Danksagungen

Herrn Privat-Dozent Dr. med. Dr. med. dent. Oskar Bock und
Herrn Professor Dr. med. Dr. med. dent. Gerhard Steinhardt
danke ich für die Übernahme des Referates.

Mein Dank gilt ebenfalls
Herrn Dr. med. Dr. med. dent. Raimund Harndt
für die Überlassung der von ihm entwickelten Maschine zum Schneiden der Präparate und für die Anfertigung der photographischen Abbildungen.

Lebenslauf

Ich, Olga Monika Harndt, geborene Skalweit, bin geboren am 27. 7. 1935 in Rostock, als Tochter des damaligen Oberarztes der Psychiatrisch-Neurologischen Universitätsklinik Rostock-Gehlsheim, Privat-Dozent Dr. med. Wolf Skalweit und seiner Ehefrau Annaliese, geborene Röpke.

Vom Herbst 1941 bis zur ostzonalen Grundschulabschlußprüfung im Herbst 1950 besuchte ich die Grundschule in Rostock. Danach wurde ich in die 9. Klasse der Goethe-Oberschule Rostock aufgenommen, die ich wegen Umzugs aus der 11. Klasse verließ. Ich setzte meine Schulausbildung von April 1953 bis März 1955 in Berlin fort und bestand am 7. 3. 1955 an der Gabriele-von-Bülow-Schule in Berlin-Tegel die Reifeprüfung.

An der Freien Universität Berlin wurde ich im Sommersemester 1955 für das Studium der Zahnheilkunde zugelassen. Am 30. 4. 1958 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung und ließ mich nach dem Sommersemester 1958 exmatrikulieren, um an der Philipps-Universität Marburg an der Lahn mein Studium fortzusetzen.

Nachdem ich am 21. 8. 1959 Dr. Dr. Raimund Harndt, damals wissenschaftlicher Assistent der Universitäts-Zahnklinik Bonn, geheiratet hatte, wechselte ich nochmals die Universität, um mein Studium an der Rheinischen-Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn mit der zahnärztlichen Prüfung am 6. 7. 1961 ab-abzuschließen.

Am 8. 1. 1961 wurde meine Tochter Olga Katharina geboren.

Nach dem Staatsexamen arbeitete ich ununterbrochen bis zum Juli 1963 in verschiedenen zahnärztlichen Praxen. Seit dem 1. 7. 1963 bin ich Assistentin der Kieferklinik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.